

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

11 N° de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

2 676 059

21 N° d'enregistrement national : 91 05403

51 Int Cl<sup>5</sup> : C 07 K 5/08, 5/10, 7/64, 1/06; A 61 K 37/64

HO

12

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 02.05.91.

71 Demandeur(s) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE  
ATOMIQUE Etablissement de Caractère Scientifique,  
Technique et Industriel — FR.

30 Priorité :

72 Inventeur(s) : Dive Vincent, Toma Flavio et Yiotakis  
Athanasios.

43 Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 06.11.92 Bulletin 92/45.

73 Titulaire(s) :

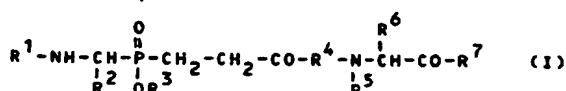
56 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche : Se reporter à la fin du présent fascicule.

74 Mandataire : Brevatome.

54 Nouveaux dérivés de peptides utilisables comme inhibiteurs de collagénases bactériennes.

57 L'invention concerne de nouveaux dérivés de pepti-  
des, utilisables comme inhibiteurs des collagénases bacté-  
riennes.

Ces dérivés répondent à la formule:



dans laquelle R<sup>1</sup> est un atome d'hydrogène, un groupe blo-  
quant ou un radical dérivé d'un aminoacide ou d'un peptide  
éventuellement protégé par un groupe bloquant, R<sup>2</sup> est la  
chaîne latérale d'un α-aminoacide, R<sup>3</sup> est H, un métal, un  
groupe alkyle ou benzyle, R<sup>4</sup> est dérivé de la proline, de  
l'hydroxyproline, de la thiazolidine ou de la déshydropro-  
line, R<sup>5</sup> est H ou un alkyle, R<sup>6</sup> est la chaîne latérale d'un  
aminoacide, et R<sup>7</sup> est OR<sup>6</sup> avec R<sup>6</sup> étant H, un métal, alkyle  
ou benzyle, ou dans laquelle R<sup>1</sup> et R<sup>7</sup> forment ensemble un  
radical bivalent dérivé d'un aminoacide ou d'un peptide.

Les dérivés dans lesquels R<sup>3</sup> est un métal ou l'hydrogène  
sont utilisables comme inhibiteurs des collagénases bacté-  
riennes.

FR 2 676 059 - A1



Nouveaux dérivés de peptides utilisables comme inhibiteurs de collagénases bactériennes.

La présente invention a pour objet de 5 nouveaux dérivés de peptides, utilisables comme inhibiteurs des collagénases bactériennes qui appartiennent à la classe des métalloprotéases à zinc.

De façon plus précise, elle concerne 10 des dérivés de polypeptides possédant un groupement chélatant phosphinique  $\text{PO}_2\text{-CH}_2$  susceptible d'interagir fortement avec l'atome de zinc du site actif de ces collagénases.

Le collagène est un composant majoritaire 15 de la matrice extracellulaire des organismes eucaryotes pluricellulaires. Ainsi, il est le constituant principal de la peau, des tendons, des os, des cartilages et des tissus, et représente environ 40% de toutes les protéines du corps humain.

Bien que la molécule de collagène soit 20 très résistante à l'action de la plupart des protéases, elle peut être néanmoins dégradée par des protéases qui lui sont spécifiques, les collagénases.

Deux classes distinctes de collagénases 25 ont été identifiées à ce jour et sont caractérisées par la spécificité des coupures qu'elles opèrent dans la molécule de collagène. La première classe de collagénases est constituée par les collagénases d'organismes supérieurs qui hydrolysent les liaisons peptidiques contenant le double Gly-Ile ou Gly-Leu 30 alors que la deuxième classe est constituée par les collagénases bactériennes qui hydrolysent systématiquement toutes les liaisons peptidiques comportant la séquence X-Gly et dégradent en général toute la molécule de collagène.

Les collagénases bactériennes appartiennent à la classe des métalloprotéases à zinc et l'existence d'un atome de zinc dans leur site catalytique qui est impliqué directement dans la réaction 5 d'hydrolyse de la liaison peptidique des substrats, rend possible le développement d'inhibiteurs compétitifs de ces enzymes. Ces inhibiteurs qui peuvent être des dérivés de peptides, comportent une partie peptidique dont la fonction est d'engager 10 des interactions spécifiques avec les sous-sites de liaison de l'enzyme, et un groupement chélatant susceptible d'interagir fortement avec l'atome de zinc du site actif.

Ce modèle d'interaction enzyme-substrat, 15 propre à la famille des protéases à zinc, a permis récemment la mise au point de puissants inhibiteurs présentant des propriétés pharmacologiques intéressantes. Parmi ceux-ci, on peut citer les inhibiteurs de l'enzyme de conversion et les inhibiteurs des 20 enképhalinases. Toutefois, ces composés sont incapables d'inhiber les collagénases bactériennes. Ceci s'explique par le fait que chacune de ces trois protéases à zinc (enképhalinase, enzyme de conversion, collagénase bactérienne) possède une spécificité différente. 25

Dans le cas des collagénases bactériennes, des travaux récents ont montré qu'il était possible, d'après les hypothèses développées ci-dessus, de produire aussi pour cette classe de protéases des 30 inhibiteurs pseudo-peptidiques comportant un groupement chélatant thiol, cétone ou phosphoramido.

Ainsi, Yotakis et al dans Eur. J. Biochem., vol 160, p. 413-418 (1986) et dans Eur. J. Biochem., vol. 172, p. 761-766, (1988), ont montré que les

composés HS-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Pro-Arg et HS-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Pro-Har inhibaient les collagénases produites par Achromobacter iophagus et par Clostridium histolyticum, les constantes d'inhibition K<sub>i</sub> obtenues étant 5 de 400.10<sup>-9</sup>M et de 210.10<sup>-9</sup>M.

Galardy et al dans Biochemistry, vol. 22, n° 19, p. 4556-4561, (1983) et dans US-A-4 558 034 ont montré que des di et tripeptides comportant un groupement phosphonyle inhibaient 10 la collagénase de clostridium histolyticum. Dans ce cas, pour le meilleur composé isoamyl-PO<sub>2</sub>Gly-Pro-Ala, la constante d'inhibition K<sub>i</sub> est de 20.10<sup>-6</sup>M.

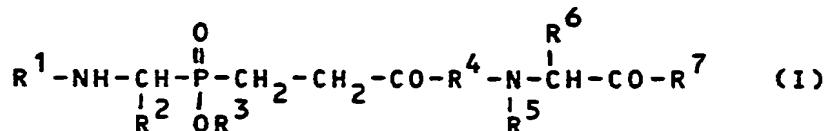
Mookhtiar et al dans Biochemistry, vol. 15 27, p. 4299-4304 (1988) ont montré que des dérivés de peptides comportant une fonction cétone pouvaient inhiber les collagénases de Clostridium histolyticum. Dans ce cas, la constante d'inhibition K<sub>i</sub> est de 1.10<sup>-6</sup>M pour le meilleur composé (cinnamoyl - Leuk-20 Gly-Pro-Arg).

Ainsi, aucun des inhibiteurs connus ne conduit à des constantes d'inhibition de l'ordre de la nanomole.

Aussi, des recherches ont été poursuivies 25 pour trouver d'autres inhibiteurs plus actifs.

La présente invention a précisément pour objet de nouveaux dérivés de peptides qui sont des inhibiteurs des collagénases bactériennes plus puissants et plus sélectifs.

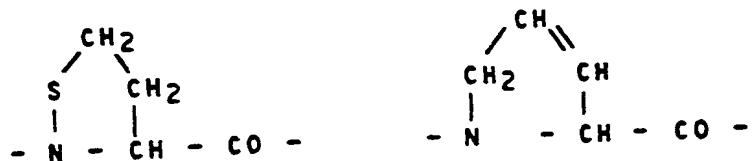
30 Selon l'invention, ces dérivés de peptides répondent à la formule :



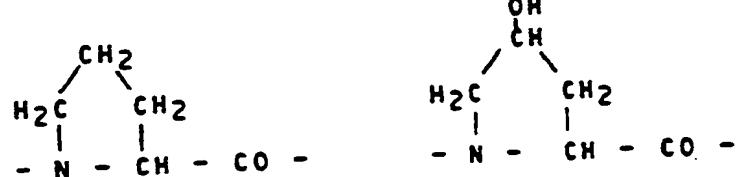
dans laquelle

- R<sup>1</sup> représente un atome d'hydrogène, un groupe capable de bloquer la terminaison N d'un alpha-aminoacide, ou un radical dérivé d'un alpha-aminoacide ou d'un peptide rattaché à NH par sa terminaison CO et comportant sur sa terminaison N un atome d'hydrogène ou un groupe capable de bloquer la terminaison N d'un alpha-aminoacide,
- R<sup>2</sup> est la chaîne latérale d'un alpha-aminoacide,
- R<sup>3</sup> est un atome d'hydrogène, un atome de métal, un groupe alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>5</sub> ou un groupe benzyle,
- R<sup>4</sup> est un radical bivalent dérivé d'un alpha-aminoacide choisi parmi la proline, l'hydroxyproline, la thiazolidine et la déshydroproline, de formule :

15



20



25 relié à CO par son atome d'azote,

- R<sup>5</sup> est un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub>,
- R<sup>6</sup> est un groupe alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>5</sub> ou la chaîne latérale d'un alpha-aminoacide, et
- R<sup>7</sup> représente OR<sup>8</sup> avec R<sup>8</sup> représentant un atome d'hydrogène, un atome de métal, un groupe alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>5</sub> ou un groupe benzyle,
- ou dans laquelle soit R<sup>1</sup> et R<sup>7</sup>, soit R<sup>1</sup> et R<sup>6</sup>, forment ensemble un radical bivalent dérivé d'un alpha-aminoacide ou d'un peptide comportant de 2 à 3 résidus

d'acides aminés.

Dans ces dérivés de peptides, on utilise comme groupement chimique capable d'interagir avec l'atome de zinc du site actif des collagénases, 5 le groupe phosphinique  $\text{PO}_2^-$ -CH<sub>2</sub> qui présente un fort pouvoir inhibiteur, tout en conférant au dérivé une bonne stabilité chimique.

En effet, l'utilisation de cette liaison phosphinique rend ces nouveaux dérivés stables, 10 notamment en milieu acide. De plus, ces dérivés sont particulièrement intéressants car, tout en ayant une excellente affinité vis-à-vis des collagénases bactériennes, ils possèdent en outre une meilleure sélectivité que les inhibiteurs connus.

15 De plus, les dérivés de peptides de l'invention répondant à la formule (I) dans laquelle R<sup>1</sup> et R<sup>7</sup> forment ensemble un radical bivalent dérivé d'un alpha-aminoacide ou d'un peptide, possèdent une stabilité améliorée vis-à-vis de la dégradation 20 possible par des protéases.

En effet, un des problèmes auxquels on doit faire face quand on utilise des peptides dans des milieux physiologiques concerne le fait que ces molécules sont en général très rapidement inactivées par des protéases capables de cliver une liaison peptidique présente dans ces molécules.

25 Dans la définition des peptides de l'invention, les termes "alpha-aminoacide" se rapportent aux vingt  $\alpha$ -aminoacides communément trouvés dans les protéines qui sont également connus sous le nom d'aminoacides standard et à leurs analogues. Les chaînes latérales de ces aminoacides comprennent 30 des groupes alkyle linéaires et ramifiés, hydroxylalkyle, carboxyalkyle, aralkyle, aminoalkyle, carboxamide alkyle, mercapto alkyle, phénylalkyle,

hydroxyphénylalkyle, guanidinoalkyle, imidazoylalkyle, indolylalkyle, et pyrrolidinyle.

A titre d'exemple d'acides aminés utilisables, on peut citer l'alanine, l'arginine, l'asparagine, l'acide aspartique, la cystéine, la glutamine, l'acide glutamique, la glycine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la norleucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la proline, l'hydroxyproline, la sérine, la thréonine, le tryptophane, la tyrosine, la valine, la nitrophényl alanine, l'homo arginine, la thiazolidine et la déshydroproline.

Les termes "groupe capable de bloquer la terminaison N d'un  $\alpha$ -aminoacide" ou "groupe bloquant" incluent tous les groupes bloquants utilisables pour bloquer les fonctions amines d'aminoacides et de peptides, par exemple les groupes t-butoxy-carbonyle, benzyloxycarbonyle, cinnamoyle, pivaloyle et N-(9-fluorényl-méthoxycarbonyle).

Les métaux utilisables pour  $R^3$  et  $R^8$  sont en particulier des métaux pharmaceutiquement acceptables, par exemple des métaux alcalins tels que le sodium et le lithium.

Selon un premier mode de réalisation de l'invention,  $R^1$  représente un atome d'hydrogène, un groupe capable de bloquer la terminaison N d'un alpha-aminoacide ou un radical dérivé d'un alpha-aminoacide ou d'un peptide éventuellement protégé par un groupe bloquant, et  $R^7$  représente  $OR^8$  avec  $R^8$  représentant un atome d'hydrogène, un atome de métal, un groupe alkyle ou un groupe benzyle.

Dans ces dérivés,  $R^2$  est la chaîne latérale d'un alpha-aminoacide qui peut être par exemple la phénylalanine, et  $R^4$  est dérivé d'un acide aminé

choisi parmi la proline, l'hydroxyproline, la thiazolidine et la déshydroproline.

On utilise de préférence pour R<sup>4</sup> le dérivé de la proline de formule :

5



10

Dans ces dérivés, l'extrémité  $\text{-N}(\text{R}^5)-\text{CH}(\text{R}^6)-\text{CO}-$

peut correspondre à différents acides aminés.

15 A titre d'exemple, il peut s'agir de la norleucine et dans ce cas, R<sup>5</sup> est un atome d'hydrogène et R<sup>6</sup> est le groupe n-butyle.

20 Dans ce premier mode de réalisation de l'invention, R<sup>1</sup> peut représenter un groupe bloquant, par exemple le groupe benzyloxycarbonyle, ou correspondre à un résidu d'acide protégé, par exemple à la glycine protégée par un groupe bloquant, ou à un résidu de peptide protégé, par exemple -Pro-Gly protégé par un groupe bloquant. Ce groupe bloquant peut être également le groupe benzyloxycarbonyle.

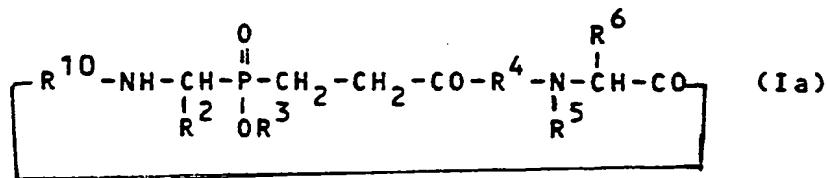
25 Lorsque les dérivés de peptides de l'invention sont destinés à être utilisés comme inhibiteurs des collagénases bactériennes, R<sup>3</sup> est de préférence un métal tel que le sodium, et dans R<sup>7</sup> c'est-à-dire OR<sup>8</sup>, R<sup>8</sup> est également de préférence un métal par exemple le sodium.

30 Selon un second mode de réalisation de l'invention, le dérivé de peptide est un cyclopeptide

35

répondent par exemple à la formule :

5



dans laquelle  $\text{R}^{10}$  représente un radical bivalent dérivé d'un peptide ou d'un alpha-aminoacide.

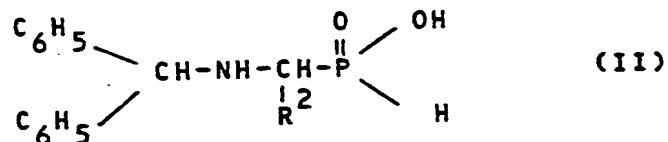
10 Généralement  $\text{R}^{10}$  est dérivé d'un peptide et comprend par exemple deux résidus d'acide aminé. Avec un tel  $\text{R}^{10}$ , on obtient un dérivé cyclique plus résistant à la dégradation par des protéases que les dérivés de formule (I) non cyclique, qui 15 conserve par ailleurs intactes ses propriétés inhibitrices vis-à-vis des collagénases bactériennes.

20 Dans ce second mode de réalisation de l'invention,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  et  $\text{R}^6$  représentent avantageusement les mêmes groupes que dans le premier mode de réalisation de l'invention.

Les dérivés de peptides de l'invention peuvent être préparés par des procédés classiques.

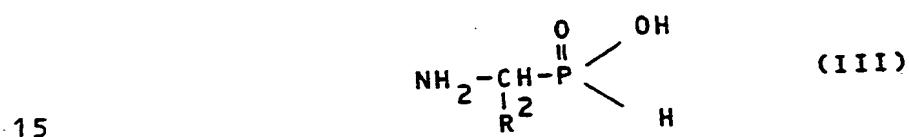
Ainsi, les dérivés correspondant au premier mode de réalisation de l'invention dans lesquels 25  $\text{R}^1$  est un groupe bloquant,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  et  $\text{R}^6$  ont la signification donnée ci-dessus, et  $\text{R}^7$  représente  $\text{OR}^8$  avec  $\text{R}^8$  identique à  $\text{R}^3$ , peuvent être préparés par un procédé comprenant les étapes suivantes :

30 a) faire réagir un aldéhyde de formule  $\text{R}^2\text{-CHO}$  dans laquelle  $\text{R}^2$  a la signification donnée ci-dessus avec du diphenyl aminohypophosphite pour obtenir un acide diphenylméthylaminoalkylphosphinique de formule :

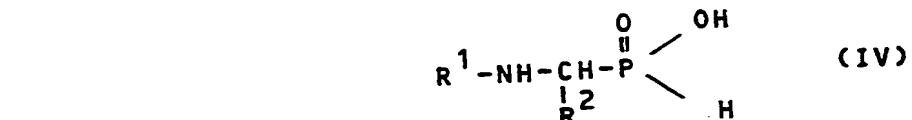


5

b) faire réagir l'acide diphenylméthylaminoalkylphosphinique de formule (II) avec un hydracide halogéné de formule  $HX$  dans laquelle  $X$  est un atome d'halogène, pour obtenir un acide aminoalkylphosphinique de formule :

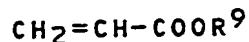


c) protéger la terminaison N de l'acide aminoalkylphosphinique de formule (III) par le groupe bloquant R<sup>1</sup> pour obtenir l'acide aminoalkylphosphinique de formule :

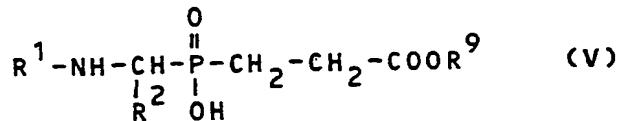


25

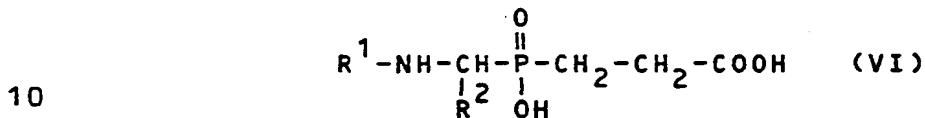
d) faire réagir l'acide de formule (IV) avec un acrylate d'alkyle de formule :



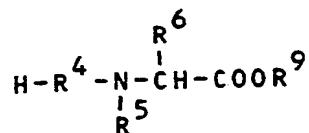
30 dans laquelle R<sup>9</sup> est un radical alkyle pour obtenir  
le composé de formule :



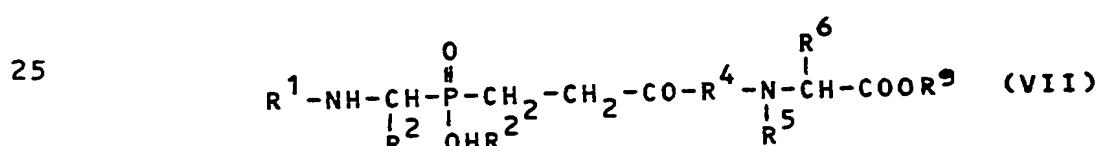
5 e) saponifier le composé de formule (V)  
pour obtenir l'acide de formule (VI)



f) faire réagir l'acide de formule (VI)  
avec un peptide de formule  
15



20 dans laquelle  $R^9$  est un radical alkyle pour obtenir  
le peptide de formule (VII)



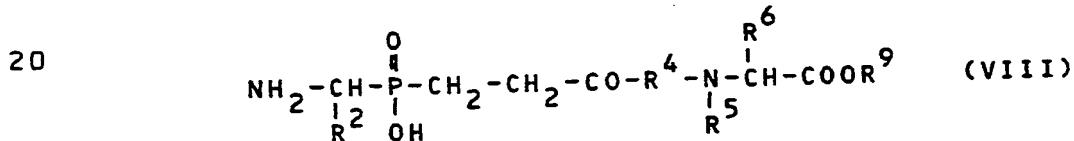
30 g) faire réagir le peptide de formule  
(VII) avec un halogénure de formule  $R^3X$  dans laquelle  
 $R^3$  a la signification donnée ci-dessus et  $X$  est  
un atome d'halogène pour obtenir le peptide de

formule (I).

Les dérivés de peptides correspondant au premier mode de réalisation de l'invention, c'est-à-dire répondant à la formule (I) dans laquelle 5 R<sup>1</sup> est un radical dérivé d'un acide aminé ou d'un peptide dont la terminaison N est protégée par un groupe bloquant, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> et R<sup>6</sup> ont la signification donnée ci-dessus, et R<sup>7</sup> représente OR<sup>8</sup> avec R<sup>8</sup> identique à R<sup>3</sup>, peuvent être préparés 10 par un procédé comprenant les étapes successives suivantes :

a") préparer un peptide de formule (VII) en réalisant les étapes a) à f) du procédé décrit ci-dessus,

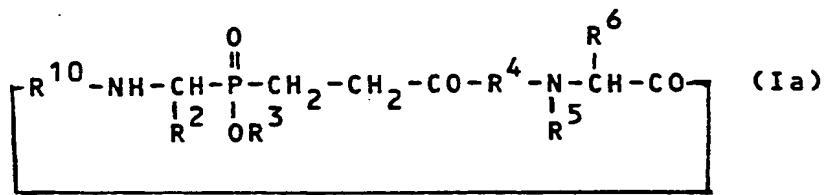
15 b') éliminer le groupe protecteur R<sup>1</sup> du peptide de formule (VII) pour obtenir le peptide de formule :



25 c') faire réagir le peptide de formule (VIII) avec un acide aminé ou un peptide dont la terminaison N est protégée par un groupe bloquant et dont la terminaison C est activée par un groupe nitrophényle, et

30 d') faire réagir le peptide obtenu dans l'étape c') avec un halogénure de formule R<sup>3</sup>X dans laquelle X est un atome d'halogène.

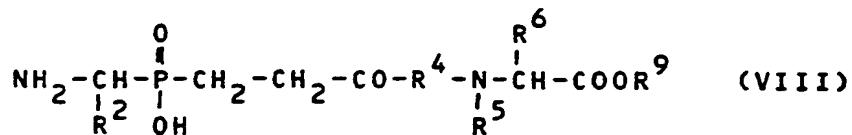
Les dérivés de cyclopeptides correspondant au second mode de réalisation de l'invention et répondant à la formule :



5 dans laquelle R<sup>10</sup> représente un radical bivalent dérivé d'un peptide ou d'un aminoacide et R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> et R<sup>6</sup> ont la signification donnée ci-dessus, peut être préparé par un procédé comprenant les étapes successives suivantes :

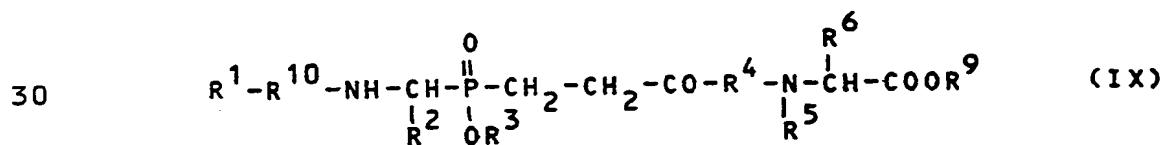
10 a") préparer un peptide de formule (VII) en réalisant les étapes a) à f) du procédé décrit ci-dessus,

15 b") éliminer le groupe protecteur R<sup>1</sup>  
du peptide de formule (VII) pour obtenir le peptide  
de formule :



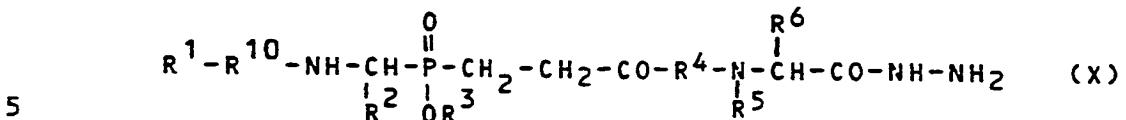
20

25 c") faire réagir le peptide de formule (VIII) avec un peptide de formule  $R^1-R^{10}-OR^{11}$  dans laquelle  $R^1$  est un groupe bloquant la terminaison N du peptide et  $R^{11}$  est un groupe nitrophényle, pour obtenir le peptide de formule :



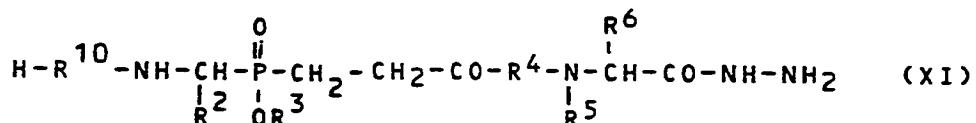
35 (IX) avec l'hydrazine pour obtenir l'hydrazide

de formule :



e") déprotéger l'hydrazide de formule (X) pour obtenir l'hydrazide de formule :

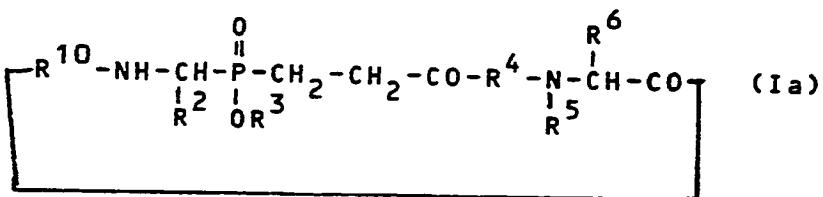
10



15

f") cycliser l'hydrazide de formule (XI) pour obtenir le cyclopeptide de formule (Ia)

20



Dans les procédés décrits ci-dessus,  
25 les différentes étapes sont réalisées par des techniques classiques et en utilisant les réactifs et les solvants généralement employés dans la chimie des peptides pour réaliser ces types de réactions.

Les dérivés de peptides de l'invention  
30 peuvent trouver de nombreuses applications en raison de leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis des collagénases bactériennes.

Ils peuvent être utilisés en particulier dans des compositions pharmaceutiques destinées  
35 au traitement de certaines infections dues à la

présence de bactéries capables d'excréter de la collagénase.

En effet, la présence de ces bactéries peut entraîner une destruction importante du collagène et porter donc atteinte à l'intégrité du tissu conjonctif de l'organisme infecté. C'est le cas en particulier des affections par *Clostridium histolyticum* ou par *Pseudomonas aeruginosa*. On peut les utiliser en particulier pour le traitement des maladies parodontales associées aux microorganismes collagénolytiques qui sont responsables de la destruction du collagène, entrant par exemple dans la composition de la gencive.

En effet, bien que les dérivés de peptides de l'invention n'aient pas d'action directe sur les microorganismes collagénolitiques, ils constituent un moyen thérapeutique intéressant dans certaines pathologies (par exemple gangrène, infections dentaires) car ils sont des inhibiteurs puissants et spécifiques des collagénases bactériennes. Dans ces applications pharmaceutiques, on peut aussi utiliser les dérivés de peptides de l'invention pour inhiber d'autres métalloprotéases présentant des spécificités proches de celles des collagénases bactériennes, impliquées dans le métabolisme du collagène.

Aussi, l'invention a également pour objet une composition pharmaceutique comprenant une quantité pharmaceutiquement efficace d'un dérivé de peptide de l'invention répondant à la formule (I) donnée ci-dessus dans laquelle R<sup>3</sup> est un atome d'hydrogène ou de métal.

Cette composition peut être sous la forme d'un sel physiologiquement acceptable du dérivé

de peptide, dans un véhicule ou un support physiologiquement acceptable appropriée. Elle peut par exemple être administrée sous la forme de solutions ou de suspensions par injection.

5 Les doses préférées à administrer se situent dans la gamme allant de 1mg/kg/jour à environ 5mg/kg/jour.

10 Les compositions peuvent être aussi sous la forme de compositions destinées à l'administration orale, telles que des comprimés ou des capsules, obtenus par exemple en combinant les dérivés de peptides de l'invention avec des supports, des excipients et des additifs classiques tels que le carbonate de magnésium, le stéarate de magnésium, 15 le talc, le sucre, le lactose, la pectine, la dextrine, l'amidon, la gélatine, le tragacanthe, la méthylcellulose, la carboxyméthylcellulose de sodium, le beurre de cacao, etc. Des diluants, des agents de saveur, des solubilisants, des lubrifiants, 20 des agents de mise en suspension, des liants, des agents de désintégration etc. peuvent être ajoutés aux compositions. Les ingrédients actifs peuvent être aussi encapsulés avec d'autres supports etc.

25 Les dérivés de peptides de l'invention peuvent également trouver des applications dans d'autres domaines, par exemple pour la protection des peaux dans le domaine de la fabrication du cuir et pour la protection de la gélatine dans différentes activités utilisant la gélatine.

30 En effet, si le substrat naturel des collagénases bactériennes apparaît être prioritairement le collagène natif, on sait que cette protéase peut utiliser comme substrat du collagène sous sa forme dénaturée, c'est-à-dire la gélatine. La

gélatine est utilisée actuellement dans divers contextes et il est intéressant de maintenir l'intégrité parfaite de la gélatine pour ces applications. Ceci peut donc être obtenu en utilisant 5 les dérivés de peptides de l'invention comme inhibiteurs compétitifs des collagénases bactériennes susceptibles de détruire la gélatine.

On peut encore utiliser les dérivés de peptides de l'invention pour isoler de nouvelles 10 protéases à zinc présentant une spécificité proche de celle que possèdent les collagénases bactériennes, notamment au sein des organismes supérieurs. Dans ce cas, on peut utiliser les dérivés de peptides de l'invention comme ligand pour la réalisation 15 de colonnes d'affinité en vue de séparer d'autres protéases à zinc.

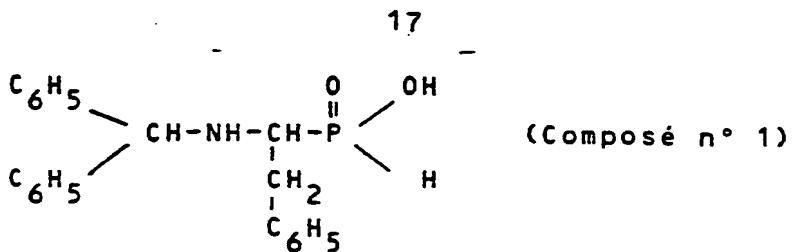
On peut aussi utiliser les dérivés de peptides de l'invention comme moyen pour contrôler l'activité de la collagénase bactérienne, par exemple 20 dans des procédés biotechnologiques basés sur l'utilisation de bactéries collagénolytiques, par exemple pour l'attendrissement de la viande et la digestion de sédiments dans les bassins de sédimentation.

25 D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples suivants donnés bien entendu à titre illustratif et non limitatif.

Exemple 1 : Préparation de Z-D,L-Phe\*-PO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO  
 30 Pro-Nle°,2Na<sup>+</sup>. (Composé A).  
 (Z=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO, Phe\*=-NH-CH(CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) et  
 Nle°=NH-CH-COO)  

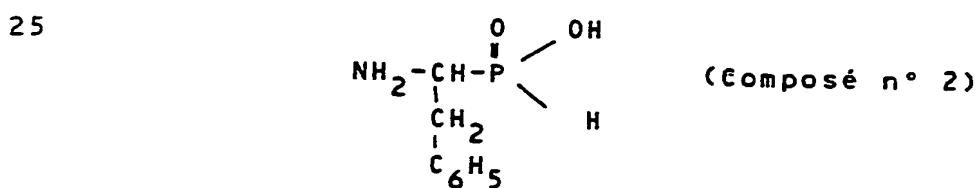
$$\begin{array}{c} (\text{CH}_2)_3 \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$$

35 a) Synthèse de l'acide diphenylméthylamino-1phényl-2éthylphosphinique D,L (1) : (composé n° 1).



5 Une solution de dioxane (12ml) contenant (12g, 0,1mol) de phénylacétaldéhyde (12g, 0,1mol) est ajoutée doucement à une solution de dioxane (300ml) contenant en suspension du diphenylaminohypophosphite (24,9g, 0,1mol). L'addition de phénylacétaldéhyde est faite à 100°C sous atmosphère d'azote au fur et à mesure de façon à ce que la température ne dépasse pas 100°C. Cette addition se fait durant 3h. L'eau formée au cours de la réaction est éliminée par distillation azéotropique. Après avoir ajouté tout l'aldéhyde, la réaction est laissée sous reflux 15min. Ce mélange est refroidi, puis dilué avec 100ml d'éthanol. Le produit cristallisé est filtré, lavé à l'éthanol, puis à l'éther et séché. On obtient ainsi 12g du composé n°1 (34%) ; (p.f=210°C, Rf(1)=0,81).

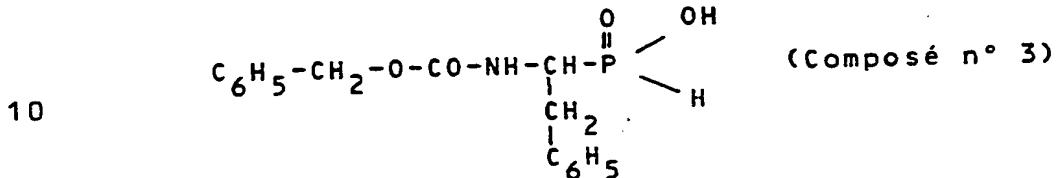
b) Synthèse de l'acide amino-1phényl-2éthylphosphinique D,L(2) de formule :



30 Le composé n°1 (3,51g, 10mmol) est chauffé  
 à 100°C pendant 1h dans un mélange HBr/H<sub>2</sub>O à 48%  
 (12mL). Ce mélange est évaporé à sec sous vide  
 très poussé, puis le produit est repris dans l'eau.  
 Le bromure de diphenylméthyl est extrait de cette  
 35 solution par un traitement à l'éther. Après évaporation,  
 le produit est repris dans 30mL d'éthanol.  
 Ce mélange, auquel est ajouté 1mL d'oxyde de propylène,  
 est refroidi à 4°C jusqu'à précipitation complète

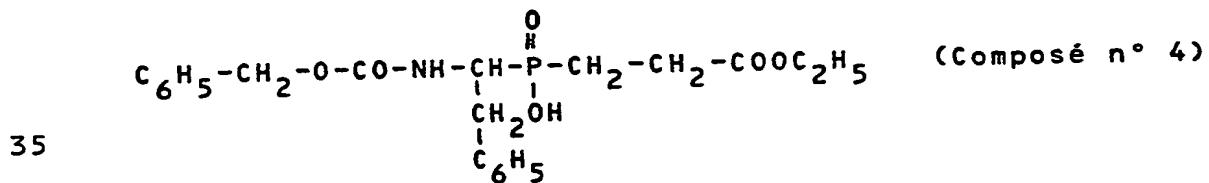
du produit. Le produit filtré est lavé à l'éthanol, puis à l'éther et séché. Le composé n° 2 attendu (2) est obtenu avec un rendement de 76% (1,42g),  $R_f(1)=0,37$ ,  $R_f(2)=0,7$ , p.f 226°C.

5 c) Synthèse de l'acide benzyloxycarbonylamino-1phényl-2éthyl-phosphinique D,L(3) de formule:



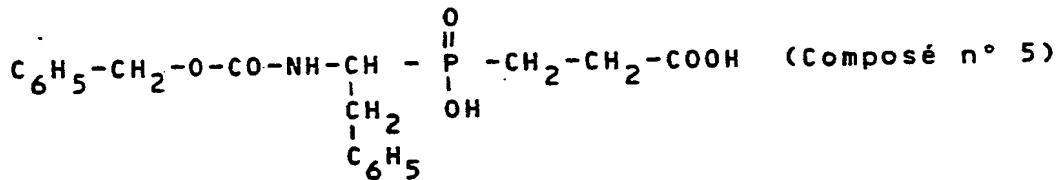
15 Le composé n° 2 (1,1g, 6mmol) est dissous dans 10ml d'eau, puis on ajuste le pH de cette solution à 9,5 à l'aide d'une solution de soude 4N. A ce mélange refroidi dans un bain de glace on ajoute doucement du benzyl chloroformate (1,2ml, 7,5mmol), tout en maintenant le pH de la réaction à 9,5 par additions successives de soude. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à 0°C pendant 30min, puis pendant 1h à la température ambiante. Après traitement au diéthyléther, ce mélange est refroidi, puis acidifié par addition d'acide chlorohydrique. Le produit qui précipite est filtré, lavé à l'eau froide et séché. Le composé n° 3 attendu est obtenu avec un rendement de 76% (1,5g),  $R_f(1)=0,57$ ,  $R_f(2)=0,76$ , p.f 110°C.

20 d) Synthèse du D,L (benzyloxycarbonylamino-1'phényl-2')hydroxyphosphinylethyl-3propionate d'éthyle(4) de formule :



Une suspension du composé n° 3 (1,27g, 4mmol) dans de l'hexaméthyldisilazane (0,968g, 6mmol) est chauffée sous agitation à 110°C pendant 40min sous atmosphère d'argon. Après avoir refroidi 5 ce mélange à 90°C, on ajoute goutte à goutte l'acrylate d'éthyle (0,48g, 4,8mmol). Cette réaction est laissée ensuite pendant 15min à 90°C sous agitation. On ajoute 12ml d'éthanol absolu à ce mélange lorsque sa température atteint 70°C, puis une fois 10 revenu à température ambiante on évapore à sec. Le résidu est dissous dans 10ml de NaHCO<sub>3</sub> à 10%, puis lavé au diéthyléther. La solution aqueuse, une fois refroidie, est acidifiée à pH 1,5 avec HCl 1N. Le précipité est filtré, lavé à l'eau froide 15 et séché. Le composé n°4 attendu est obtenu avec un rendement de 84% (1,4g). Rf(1)=0,52, Rf(3)=0,8.

e) Synthèse de l'acide 1'-phényl 2'-hydroxyphosphinyléthyl-3 propionique de 20 formule :



25

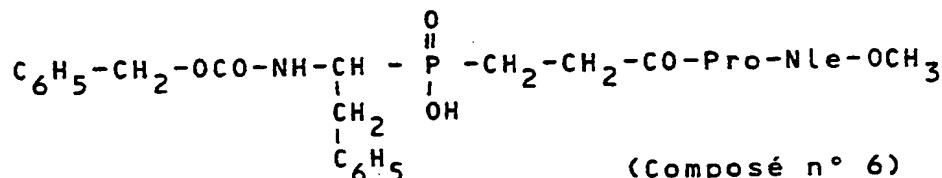
Le composé n°4 (1,26g, 3mmol) est dissous dans 6,5ml de KOH 1N et laissé sous agitation à température ambiante pendant 45min. Ce mélange est ensuite acidifié à pH 1,5 avec HCl 1N. Le précipité est extrait avec de l'éthylacétate, puis cette phase est lavée avec une solution aqueuse saturée avec NaCl, séchée avec du sulfate de sodium et concentrée en un faible volume. Après une nuit à 4°C, le précipité est filtré, lavé avec un peu 30

d'éthylacétate et séché. Le composé n° 5 attendu est obtenu avec un rendement de 88% (1g).

Rf(1)=0,51, Rf(2)=0,93, Rf(3)=0,55, Rf(5)=0,41.

f) Synthèse du peptide de formule :

5 Z-D, LPhe\*PO(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Pro-Nle<sup>o</sup>-OCH<sub>3</sub>



10

A une solution froide à 4°C du composé n° 5 dissous dans du tétrahydrofurane (12mL), on ajoute du 1-1-carbonyldiimidazole (1,78g, 11mmol).  
 15 Après 45min sous agitation à température ambiante on ajoute à ce mélange le peptide Pro-Nle-OCH<sub>3</sub> (5,5mmol) dilué dans du tétrahydrofurane (5mL). Le mélange, après 24h sous agitation, est évaporé à sec. Ce résidu est dissous dans 20mL de KOH 0,27N (5,5mmol), et cette phase est immédiatement lavée avec du diéthyléther, acidifiée à pH 1,5 avec HCl 1N. Le produit qui précipite est repris dans l'acétate d'éthyle, et cette phase est lavée avec de l'eau, séchée avec du sulfate de sodium et concentrée à sec. Ce résidu est dissous dans un faible volume de chloroforme, puis précipité en ajoutant de l'éther de pétrole. Le composé n° 6 final, après filtration, lavage et séchage, est obtenu avec un rendement de 89% (3g).

20 Rf(5)=0,6, Rf(6)=0,33.

g) Synthèse du peptide de formule

Z-D, LPhe\*-PO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Pro-Nle<sup>o</sup>, 2Na<sup>+</sup> (Composé A).

Le composé n°6 (0,15g, 0,19mmol) est dissous dans l'éthanol 10% (15mL), puis on ajoute du KOH 2N (0,475mL) sous agitation 3h à température ambiante. La phase aqueuse est acidifiée à pH 1,5 avec HCl 1N. Le précipité est repris dans de l'éthylacétate et la phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée en NaCl, séchée avec du sulfate de sodium et concentrée à sec. Le résidu est dilué dans une solution aqueuse contenant du NaHCO<sub>3</sub> (0,38mmol), puis lyophilisé. Le produit attendu est obtenu avec un rendement de 93%.

R<sub>f</sub>(1)=0,27, R<sub>f</sub>(2)=0,85, R<sub>f</sub>(8)=0,57.

<sup>1</sup>H NMR (H<sub>2</sub>O): CH<sub>ε</sub>Nle 0,94; CH<sub>δ,γ</sub>Nle 1,37 (m, 4); CH<sub>β</sub>Nle 1,84 (m, 1); CH<sub>β</sub>Nle 1,73 (m, 1); CH<sub>α</sub>Nle 4,18 (m, 1); NHNle 8,08 (d,1); CH<sub>γ</sub>Pro 2,02 (m, 2); CH<sub>β</sub>Pro 2,02 (m, 1); CH<sub>β</sub>Pro 2,28 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,63 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,48 (m, 1); CH<sub>α</sub>Pro 4,41 (q, 1); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 2,57 (m,2); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 1,88 (m,2); CH<sub>β</sub>Phe 2,73 (m,1); CH<sub>β</sub>Phe 3,26 (m,1); CH<sub>α</sub>Phe 3,96 (m,1); NH Phe 7,26; (d,1); Z-CH<sub>2</sub>- 5 (m,2); Ar 7,35 (m, 10).

<sup>31</sup>P NMR (H<sub>2</sub>O): 43,83

Exemple 2 : Préparation du peptide

25 Z-Pro-Phe\*-PO(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Pro-Nle<sup>0</sup>2Na<sup>+</sup> (composé B)  
(Z=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO- et Phe\*=NH-CH(CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)-)

Le groupement protecteur Z du composé n°6 est éliminé par hydrogénolyse catalytique classique. Le produit obtenu est couplé au Z-Pro-ONph (nitrophényl ester) commercial dans le diméthylformamide. Le produit est saponifié, puis traité dans les mêmes conditions que celles décrites pour l'obtention du composé A.

<sup>1</sup>H NMR (H<sub>2</sub>O): CH<sub>ε</sub> Nle 0,89; CH<sub>δ,γ</sub> Nle 1,35 (m, 4); CH<sub>β</sub>Nle 1,84 (m, 1); CH<sub>β</sub> Nle 1,73(m, 1); CH<sub>α</sub>Nle 4,12 (m, 1); NHNle 7,96 (d,1); CH<sub>γ</sub>Pro 2,02( m, 2); CH<sub>β</sub>Pro 1,98 (m, 1); CH<sub>β</sub>Pro 2,25 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,63 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,52(m, 1); CH<sub>α</sub>Pro 4,28 (q, 1); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 2,63 (m,2); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 1,70 (m,2); CH<sub>β</sub> Phe 2,73 (m,1); CH<sub>β</sub> Phe 3,31 (m,1); CH<sub>α</sub>Phe 4,42 (m,1); NHPhe 8,16 (d,1); CH<sub>γ</sub>Pro 1,55 ( m, 2); CH<sub>β</sub>Pro 1,72 (m, 1); CH<sub>β</sub>Pro 2,15 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,42 (m, 1); CH<sub>α</sub>Pro 4,32 (q, 1); Z-CH<sub>2</sub>- 5 (m,2); Ar 7,35-7,45 (m, 10).

<sup>31</sup>P NMR (H<sub>2</sub>O): 43,2

10

Exemple 3 : Préparation du peptide

Z-Gly-Pro-Phe\*-PO(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Pro-Nle<sup>°</sup>2Na<sup>+</sup> (composé C)  
(Z=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO et Phe\*=-NH-CH(CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)-)

15

La synthèse de ce peptide est réalisée par couplage du Z-Gly-Pro-ONph au composé n°6, ayant subi au préalable une hydrogénolyse catalytique classique, puis traité dans les mêmes conditions que celles décrites pour l'obtention du composé ci-dessus A.

20

<sup>1</sup>H NMR (H<sub>2</sub>O): CH<sub>ε</sub> Nle 0.89; CH<sub>δ,γ</sub> Nle 1,35 (m, 4); CH<sub>β</sub>Nle 1,84 (m, 1); CH<sub>β</sub> Nle 1,73(m, 1); CH<sub>α</sub>Nle 4,12 (m, 1); NHNle 7,96 (d,1); CH<sub>γ</sub>Pro 2,02( m, 2); CH<sub>β</sub>Pro 1,98 (m, 1); CH<sub>β</sub>Pro 2,25 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,63 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,52(m, 1); CH<sub>α</sub>Pro 4,28 (q, 1); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 2,63 (m,2); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 1,70 (m,2); CH<sub>α</sub>Gly 3,65 (d,1); CH<sub>α</sub>Gly 3,45 (d,1); CH<sub>β</sub> Phe 2,73 (m,1); CH<sub>β</sub> Phe 3,31 (m,1); CH<sub>α</sub>Phe 4,37(m,1); NHPhe 8,2 (d,1); CH<sub>γ</sub>Pro 1,55 ( m, 2); CH<sub>β</sub>Pro 1,70 (m, 1); CH<sub>β</sub>Pro 2,15 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,40 (m, 1); CH<sub>α</sub>Pro 4,29(q, 1); Z-CH<sub>2</sub>- 5 (m,2); Ar 7,35-7.45 (m, 10).

30 <sup>31</sup>P NMR (H<sub>2</sub>O): 43,35

Exemple 4 : Préparation du cyclopeptide

Gly-Pro-Phe\*-PO(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Pro-Nle<sup>°</sup>, Na<sup>+</sup>  
(composé D)

35

La synthèse de ce produit est réalisée

à partir du composé Z-Gly-Pro-Phe\*-PO(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Pro-Nle<sup>0</sup>-OCH<sub>3</sub> obtenu dans l'exemple 3 au cours de la synthèse du composé C. On prépare l'hydrazide de ce composé par traitement à l'hydrazine dans le méthanol, puis le groupement protecteur Z est éliminé par hydrogénéation catalytique classique. La cyclisation est alors réalisée selon la méthode de Bodanzsky M. et Henes G.B. (1975), Bioorg. Chem. Vol. 4, p. 212-218.

10 <sup>1</sup>H NMR (H<sub>2</sub>O): CH<sub>ε</sub> Nle 0,92; CH<sub>δ</sub> Nle 1,28 (m, 2); CH<sub>γ</sub>Nle 1,28 (m, 2); CH<sub>β</sub>Nle 1,95 (m, 1); CH<sub>β</sub> Nle 1,67 (m, 1); CH<sub>α</sub>Nle 4,5 (m, 1); NHNle 8,31 (d,1); CH<sub>γ</sub>Pro 2,11 (m, 2); CH<sub>β</sub>Pro 2,02 (m, 1); CH<sub>β</sub>Pro 2,38 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,63 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,82 (m, 1); CH<sub>α</sub>Pro 4,38 (q, 1); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 2,68 (m, 2); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 1,62 (m, 1); P-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> 2,29 (m, 1); CH<sub>β</sub> Phe 2,78 (m, 1); CH<sub>β</sub> Phe 3,25 (m, 1); CH<sub>α</sub>Phe 4,27 (m, 1); NH Phe 8,33 (d,1); CH<sub>γ</sub>Pro 1,88 (m, 2); CH<sub>β</sub>Pro 1,18 (m, 1); CH<sub>β</sub>Pro 2,06 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,58 (m, 1); CH<sub>δ</sub>Pro 3,41 (m, 1); CH<sub>α</sub>Pro 4,28 (q, 1); Ar 7,35-7,45 (m, 10).

15 <sup>31</sup>P NMR (H<sub>2</sub>O): 43.83

20 Exemple 5 : Détermination de l'activité des inhibiteurs.

Les activités des différents composés A, B, C et D ont été déterminées d'une part en mesurant la constante de vitesse d'association des inhibiteurs à la collagénase par la méthode 25 Morrison, J., & Walsh, C.T. (1987) Adv. Enzymol. Relat. Aeras Mol. Biol. appliquée dans le cas où les inhibiteurs sont du type slow binding ; puis d'autre part par la mesure des constantes de vitesse de dissociation des inhibiteurs du complexe enzyme- 30 inhibiteur. Dans ce cas, après avoir laissé préincuber la collagénase en présence d'un excès d'inhibiteur, on purifie le complexe enzyme-inhibiteur ainsi formé par gel filtration. Puis la solution contenant le complexe purifié est diluée par un

facteur 10000 dans un tampon de référence et l'on mesure alors en fonction du temps le retour de l'activité de la collagénase, qui traduit la dissociation de l'inhibiteur du complexe enzyme-inhibiteur. Les constantes d'inhibition reportées dans le tableau qui suit correspondent au rapport des constantes de vitesse de dissociation Koff et de vitesse d'association Kon ainsi mesurées. Dans toutes les expériences de mesures d'activité, nous avons utilisé comme substrat synthétique le Fa-Leu-Gly-Pro-Ala dans un tampon Tricine pH7. La source de collagénase bactérienne utilisée provient de la souche *Empedobacterium collagenolyticum*.

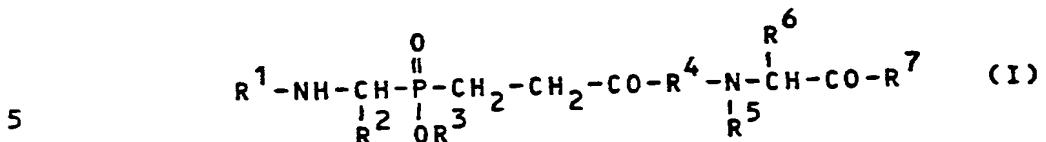
15

TABLEAU

Composé	Formule	Constantes d'inhibition Ki (nM)
20 A	$Z, D, L\text{-Phe}^* - P - \overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}} \text{H}_2 - \overset{\text{Gly}}{\text{CH}_2} - \text{CO} - \text{Pro} - \text{Nle}^*, 2\text{Na}^+$	12
B	$Z - \text{Pro} - D, L\text{-Phe}^* - P - \overset{\text{O}}{\text{CH}_2} - \text{CH}_2 - \text{CO} - \text{Pro} - \text{Nle}^*, 2\text{Na}^+$	80
25 C	$Z - \text{Gly} - \text{Pro} - D, L\text{-Phe}^* - P - \overset{\text{O}}{\text{CH}_2} - \text{CH}_2 - \text{CO} - \text{Pro} - \text{Nle}^*, 2\text{Na}^+$	0,4
D	$\text{Gly} - \text{Pro} - D, L\text{-Phe}^* - P - \overset{\text{O}}{\text{CH}_2} - \text{CH}_2 - \text{CO} - \text{Pro} - \text{Nle}^*, \text{Na}^+$	8

REVENDICATIONS

## 1. Dérivé de peptide répondant à la formule



dans laquelle

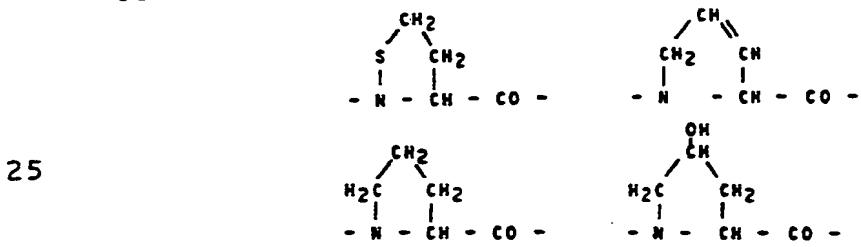
- R<sup>1</sup> représente un atome d'hydrogène, un groupe capable de bloquer la terminaison N d'un alpha-aminoacide, ou un radical dérivé d'un alpha-aminoacide ou d'un peptide rattaché à NH par sa terminaison CO et comportant sur sa terminaison N un atome d'hydrogène ou un groupe capable de bloquer la terminaison N d'un alpha-aminoacide,

10 - R<sup>2</sup> est la chaîne latérale d'un alpha-aminoacide,

- R<sup>3</sup> est un atome d'hydrogène, un atome de métal, un groupe alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>5</sub> ou un groupe benzyle,

15 - R<sup>4</sup> est un radical bivalent dérivé d'un alpha-amino-

20 acide choisi parmi la proline, l'hydroxyproline, la thiazolidine et la déshydroproline, de formule :



relié à CO par son atome d'azote,

- R<sup>5</sup> est un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub>,

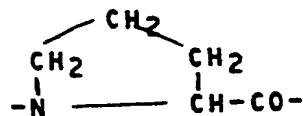
30 - R<sup>6</sup> est un groupe alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>5</sub> ou la chaîne latérale d'un alpha-aminoacide, et

- R<sup>7</sup> représente OR<sup>8</sup> avec R<sup>8</sup> représentant un atome

d'hydrogène, un atome de métal, un groupe alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>5</sub> ou un groupe benzyle,  
 ou dans laquelle soit R<sup>1</sup> et R<sup>7</sup>, soit R<sup>1</sup> et R<sup>6</sup> forment ensemble un radical bivalent dérivé d'un 5 alpha-aminoacide ou d'un peptide comportant de 2 à 3 résidus d'acide aminé.

2. Dérivé de peptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que R<sup>4</sup> représente le radical de formule :

10



3. Dérivé de peptide selon l'une quelconque 15 des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que R<sup>5</sup> est un atome d'hydrogène et R<sup>6</sup> est le groupe n-butyle.

4. Dérivé de peptide selon l'une quelconque 20 des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que R<sup>2</sup> représente le radical phénylméthyle.

5. Dérivé de peptide selon l'une quelconque 25 des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que R<sup>1</sup> représente un groupe capable de bloquer la terminaison N d'un alpha-aminoacide.

6. Dérivé selon la revendication 5, caractérisé en ce que R<sup>1</sup> est le groupe benzyloxycarbonyle.

7. Dérivé de peptide selon l'une quelconque 30 des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que R<sup>1</sup> représente un radical dérivé de la proline comportant un groupe capable de bloquer sa terminaison N.

8. Dérivé de peptide selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que R<sup>1</sup> représente le radical dérivé du peptide Pro-

35

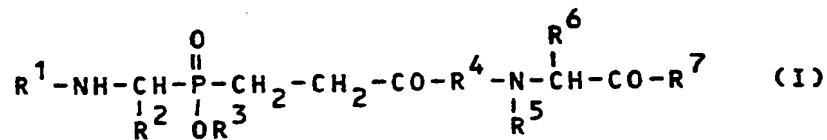
Gly protégé sur la terminaison N de Gly par un groupe bloquant.

9. Dérivé de peptide selon la revendication 8, caractérisé en ce que le groupe bloquant est 5 le groupe benzyloxycarbonyle.

10. Dérivé de peptide selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que R<sup>7</sup> représente OR<sup>8</sup> avec R<sup>8</sup> représentant un atome de sodium et R<sup>3</sup> représente un atome de sodium.

11. Dérivé de peptides selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que R<sup>1</sup> et R<sup>7</sup> forment ensemble le radical bivalent Pro-gly.

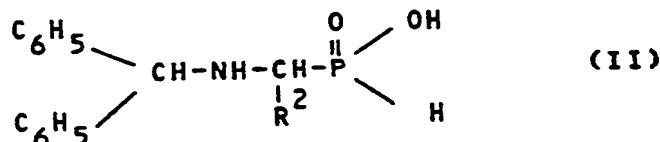
12. Procédé de préparation d'un dérivé 15 de peptide répondant à la formule :



20

25 dans laquelle R<sup>1</sup> est un groupe capable de bloquer la terminaison N d'un alpha-aminoacide, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> et R<sup>6</sup> ont la signification donnée dans la revendication 1, et R<sup>7</sup> représente OR<sup>8</sup> avec R<sup>8</sup> identique à R<sup>3</sup>, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

30 a) faire réagir un aldéhyde de formule R<sup>2</sup>-CHO dans laquelle R<sup>2</sup> a la signification donnée ci-dessus avec du diphenyl aminohypophosphite pour obtenir un acide diphenylméthylaminoalkylphosphinique de formule :

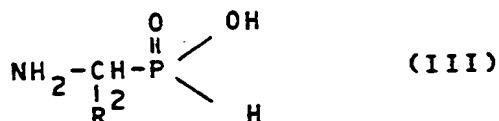


35

b) faire réagir l'acide diphenylméthylamino-

no alkylphosphinique de formule (II) avec un hydracide halogéné de formule  $\text{HX}$  dans laquelle  $\text{X}$  est un atome d'halogène, pour obtenir un acide aminoalkylphosphinique de formule :

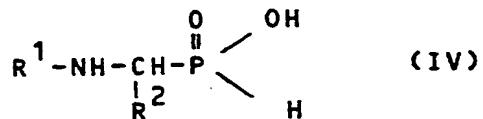
5



10

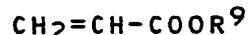
c) protéger la terminaison N de l'acide aminoalkylphosphinique de formule (III) par le groupe bloquant  $\text{R}^1$  pour obtenir l'acide aminoalkylphosphinique de formule :

15



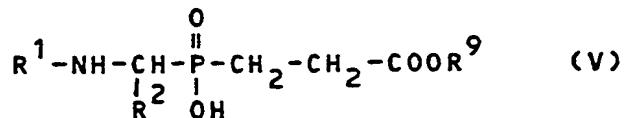
20

d) faire réagir l'acide de formule (IV) avec un acrylate d'alkyle de formule :



dans laquelle  $\text{R}^9$  est un radical alkyle pour obtenir le composé de formule :

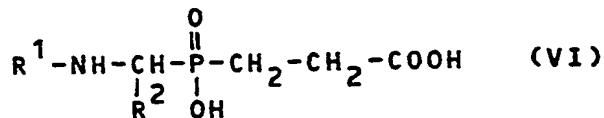
25



30

e) saponifier le composé de formule (V) pour obtenir l'acide de formule (VI)

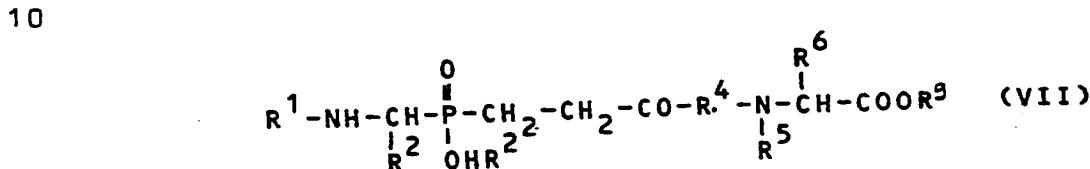
35



f) faire réagir l'acide de formule (VI) avec un peptide de formule



dans laquelle  $\text{R}^9$  est un radical alkyle pour obtenir le peptide de formule (VII)

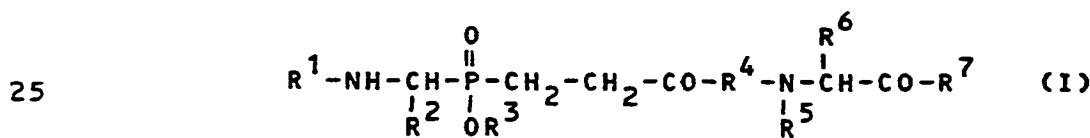


15

g) faire réagir le peptide de formule (VII) avec un halogénure de formule  $\text{R}^3\text{X}$  dans laquelle  $\text{R}^3$  a la signification donnée ci-dessus et X est un atome d'halogène pour obtenir le peptide de formule (I).

20

13. Procédé de préparation d'un dérivé de peptide répondant à la formule :



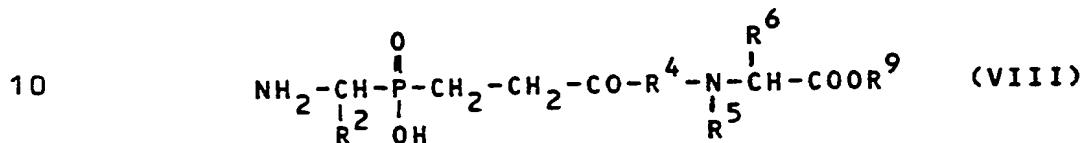
30

dans laquelle  $\text{R}^1$  est un radical dérivé d'un acide aminé ou d'un peptide dont la terminaison N est protégée par un groupe bloquant,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  et  $\text{R}^6$  ont la signification donnée dans la revendication 1, et  $\text{R}^7$  représente  $\text{OR}^8$  avec  $\text{R}^8$  identique à  $\text{R}^3$ , caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

tes :

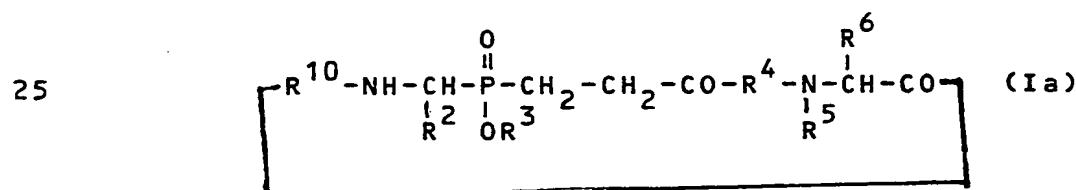
a') préparer un peptide de formule (VII) en réalisant les étapes a) à f) du procédé de la revendication 12,

5 b') éliminer le groupe protecteur  $R^1$  du peptide de formule (VII) pour obtenir le peptide de formule :



15 c') faire réagir le peptide de formule (VIII) avec un acide aminé ou un peptide dont la terminaison N est protégée par un groupe bloquant et dont la terminaison C est activée par un groupe nitro-phényle, d') faire réagir le peptide obtenu dans l'étape c'), avec un halogénure de formule  $R^3X$  dans 20 laquelle X est un atome d'halogène.

14. Procédé de préparation d'un dérivé de cyclopeptide répondant à la formule :

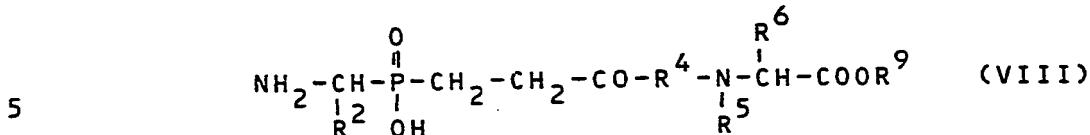


30 dans laquelle  $R^{10}$  représente un radical bivalent dérivé d'un aminoacide ou d'un peptide, caractérisé en ce qu'il consiste :

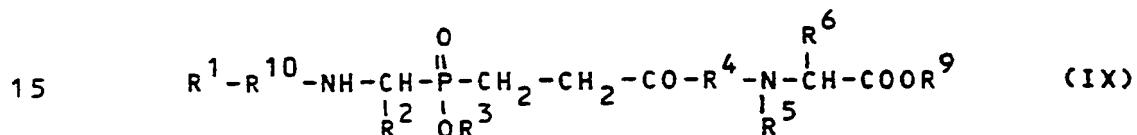
a'') préparer un peptide de formule (VII) en réalisant les étapes a) à f) du procédé de la revendication 12,

b'') éliminer le groupe protecteur  $R^1$

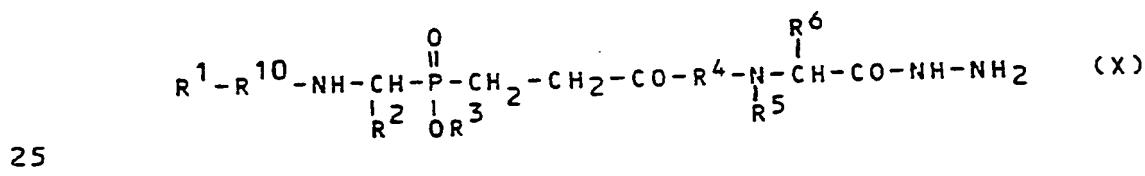
du peptide de formule (VII) pour obtenir le peptide de formule :



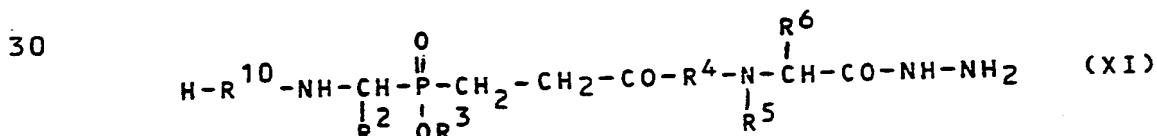
c'') faire réagir le peptide de formule (VIII) avec un peptide de formule  $\text{R}^1-\text{R}^{10}-\text{OR}^{11}$  dans 10 laquelle  $\text{R}^1$  est un groupe bloquant la terminaison N du peptide et  $\text{R}^{11}$  est groupe nitrophényle, pour obtenir le peptide de formule :



d'') faire réagir le peptide de formule (IX) 20 avec l'hydrazine pour obtenir l'hydrazide de formule :



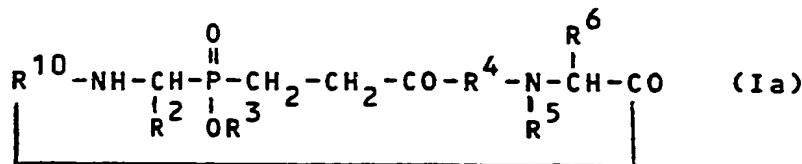
e'') déprotéger l'hydrazide de formule (X) pour obtenir l'hydrazide de formule :



f'') cycliser l'hydrazide de formule (XI)

pour obtenir le cyclopeptide de formule :

5



10

15. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité pharmaceutiquement efficace d'un dérivé de peptide selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 avec  $\text{R}^3$  représentant un atome d'hydrogène ou de métal.

15

20

25

30

35

INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE

## RAPPORT DE RECHERCHE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la rechercheFR 9105403  
FA 459870

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendications concernées de la demande examinée	DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS				
			1-15	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. CLS)			
A	EP-A-0 276 436 (HOFFMAN-LA ROCHE) 3 Août 1988 * le document en entier *---	1-15					
D,A	BIOCHEMISTRY. vol. 22, 1983, EASTON, PA US pages 4556 - 4561; R.E. GALARDY ET AL: 'INHIBITION OF COLLAGENASE FROM CLOSTRIDIUM HISTOLITICUM BY PHOSPHORIC AND PHOSPHONIC AMIDES' * le document en entier *---	1-15					
D,A	BIOCHEMISTRY. vol. 27, 1988, EASTON, PA US pages 4299 - 4304; K.A. MOOKHTIAR ET AL: 'KETONE-SUBSTRATE ANALOGUES OF CL. HISTOLITICUM COLLAGENASES: TIGHT-BINDING TRANSITION-STATE ANALOGUE INHIBITORS.' * le document en entier *---	1-15					
A	BIOCHEMISTRY. vol. 28, 1989, EASTON, PA US pages 4948 - 4951; D.GROBELNY ET AL: 'BINDING ENERGETICS OF PHOSPHORUS-CONTAINING INHIBITORS OF THERMOLYSIN' * le document en entier *---	1-15	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. CLS)	C07K A61K			
A	EP-A-0 058 427 (MERCK AND CO) 25 Août 1982 * le document en entier *---	1-15					
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur					
16 DECEMBRE 1991		GROENENDIJK M.S.M.					
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES							
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire							
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant							